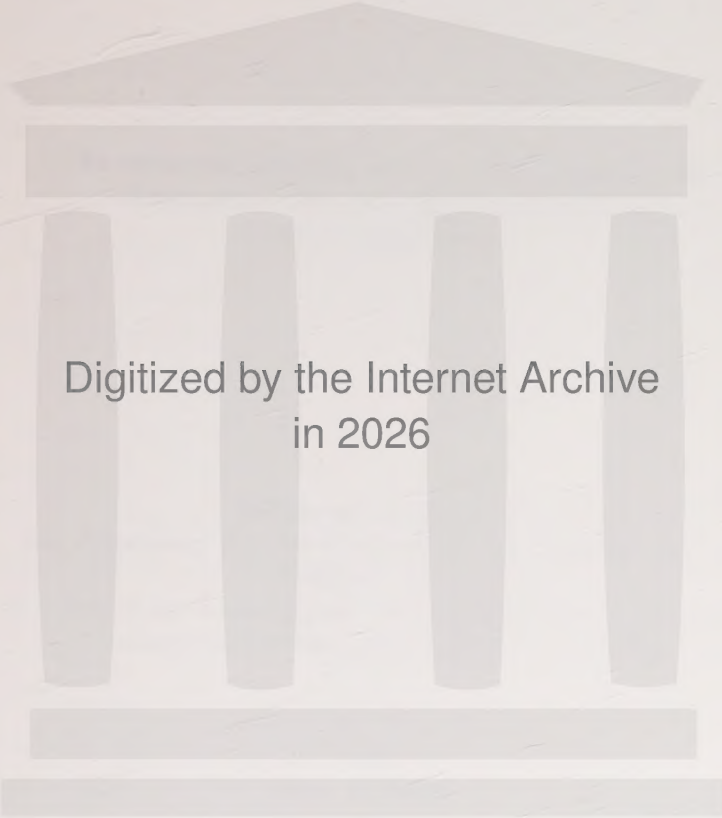


**In vitro Experimente und in vivo Messungen der
Hämoglobin-Sauerstoff-Transportfunktion
bei Hämodilution**

Gert Olbrich

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551921_0085

Aus der Kinderklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. K. Betke

In vitro Experimente und in vivo Messungen der
Hämoglobin-Sauerstoff-Transportfunktion
bei Hämodilution

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
vorgelegt einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von
Gert Olbrich
aus
München

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent : Prof. Dr. K. Riegel

Koreferent: Prof. Dr. K. Betke

Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 30.7.1974



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. METHODEN	4
A. MESSUNG DER SAUERSTOFFPARAMETER DES BLUTES	4
B. ERMITTLUNG DER SAUERSTOFFAFFINITÄT	5
C. MESSUNG DER 2,3-DIPHOSPHOGLYCERAT KONZENTRATION	7
D. BESTIMMUNG VON HBF	8
E. BESTIMMUNG DES HÄMATOKRIT	9
III. VERSUCHSBESCHREIBUNG DER IN VITRO VERSUCHE	10
IV. VERSUCHSERGEBNISSE UND DEPEN DISKUSSION	14
A. ADULTES BLUT	14
B. NABELSCHNURBLUT	15
V. VERSUCHSBESCHREIBUNG DER HUNDEVEPSUCHE	18
VI. VEPSUCHSERGEBNISSE UND DEREN DISKUSSION	19
VII. ZUSAMMENFASSUNG UND FOLGERUNG FÜR DEN KLINISCHEN EINSATZ	22
VIII. TABELLE I	24
IX. TABELLE II	28
X. TABELLE III	31
XI. Tabelle IV	36
XII. LITERATURVERZEICHNIS	40

I. Einleitung

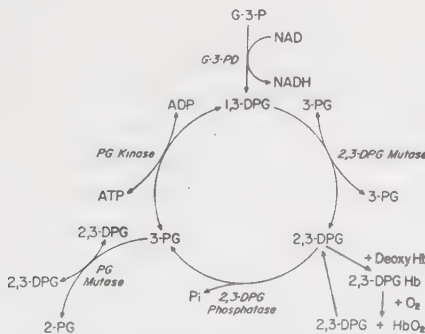
Die klinische Anwendung kolloidaler Lösungen zum Zwecke der Volumensubstitutionstherapie ist nach jahrzehntelanger Erforschung der Physiologie und Pathophysiologie des Sauerstofftransportes, der Rheologie des Blutes, der Hämodynamik der Mikrozirkulation und der Kenntnis über die Bedeutung des zirkulierenden Blutvolumens aus vielen Bereichen der Medizin nicht mehr wegzudenken. Diese künstlichen, körperfremden, kolloidalen Lösungen können jederzeit und überall eingesetzt werden, da sie billig und in beliebigen Mengen hergestellt werden können, weil sie sofort und ohne serologische Komplikationen einsatzfähig sind und ihnen das Risiko der Übertragung von Krankheitskeimen fehlt, all jenen Problemen also, denen man bei der Transfusion von Blut ausgesetzt ist. Auch wenn man in der Medizin letztlich nicht auf Bluttransfusionen verzichten kann, ist dennoch - sofern keine chronische Anämie besteht und eine normale kardiorespiratorische Kompensationsfähigkeit gewährleistet ist - der erythrocytenfreie Blutersatz bis zu 30% des normalen Blutvolumens als sinnvolle und nutzbringende Indikation angezeigt, wenn infolge hoher Hämatokritwerte die Mikrozirkulation massiv gestört und folglich die Sauerstoffversorgung der Gewebe eingeschränkt ist (FESSWER 1). Der Einsatz kolloidaler Lösungen steht deshalb in der Therapie des septischen und traumatischen Schocks im Vordergrund, gewinnt jedoch bei weiteren Krankheiten, die mit erhöhter Viskosität des Blutes einhergehen immer größere Bedeutung. Dabei reicht das Spektrum vom Myokardinfarkt (DITZEL 2), der Polycythemia, dem Hyperviskositätssyndrom der Neugeborenen (WALKER, MACKINTOSH 3), bis zur Therapie von Verbrennungen, cerebralen Durchblutungsstörungen (GOTTSTEIN et al. 4), der Prophylaxe thromboembolischer Komplikationen und der Chirurgie am offenen Herzen.

Experimentelle in vivo Untersuchungen (SUNDER-PLASSMANN et al. 5,6) haben gezeigt, daß onkotisch aktive kolloidale Lösungen durch ihr Herabsetzen des Hämatokrit bis zu einem rheologischen Optimum von 30% und der Blutviskosität eine Steigerung des postkapillären Stromzeitvolumens hervorrufen, wodurch der venöse Rückstrom gesteigert wird und über eine vermehrte enddiastolische Füllung und erhöhte Faserspannung ein Anstieg des Schlagvolumens resultiert. Die Steigerung des Herzminutenvolumens bewirkt infolge der Strömungsbeschleunigung im Bereich der Mikrozirkulation eine weitere Senkung der Viskosität, da durch zunehmende Desaggregation der Erythrocyten der Reibungskoeffizient vermindert wird. Die relative Sauerstofftransportkapazität, das Sauerstoffangebot also, welches pro Zeiteinheit dem Organismus zur Verfügung steht, erreicht bei Hämatokritwerten um 30% ebenfalls ein Optimum, das signifikant über den für Normalhämatokritkonzentrationen gültigen Werten liegt. Der viskositätssenkende Effekt kann jedoch nur dann voll wirksam werden, wenn trotz Blutverdünnung Normovolämie bestehen bleibt.

In der unseren Wissens bisher einzigen veröffentlichten Arbeit, die die Atmungsfunktion des Blutes unter dem Einfluß von kolloidalen Lösungen untersucht (KNORPP et al. 7), stehen die oben beschriebenen, die Hämodynamik uneingeschränkt begünstigenden Einflüsse kolloidaler Lösungen in gravierenden Widerspruch zu der durch sie verursachten erschwerten Sauerstoffabgabe vom Hämoglobin an die Gewebe. Durch Messungen des Sauerstoffhalbsättigungsdruckes (P_{50}) stellten Knorpp et al. beim hämorrhagischen Schock des Kaninchens nach Gabe einer Dextran- und Gelantinelösung einen signifikanten Anstieg der Sauerstoffaffinität des Hämoglobin fest.

Benesch und Benesch (8), sowie Chanutin und Curnish (9) erkannten 1967, daß die Sauerstoffaffinität einer Hämoglobininlösung durch anorganische Phosphate, besonders durch 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) herabgesetzt wird, also die Sauer-

stoffentladungskapazität des Blutes gesteigert wird. Da 2,3-DPG die stärkste Konzentration aller im Erythrocyten vorkommenden Phosphate aufweist, und seine Konzentration im Erythrocyten höher als in anderen Körperzellen ist (OSKI et al. 10), betrachtet man den Stoffwechsel dieser Metaboliten als wichtigen Mechanismus, mit dem die Sauerstoffabgabe vom Hämoglobin an die Gewebe reguliert wird. Im Erythrocyten wird 2,3-DPG in einem Nebenweg der Glykolyse aus 1,3-Diphosphoglycerat in Gegenwart der 2,3-DPG Mutase synthetisiert. Das so gebildete 2,3-DPG kann unter der Wirkung der 2,3-DPG Phosphatase in 3-Phosphoglycerat und Phosphat hydrolysiert werden (Schema 1). 2,3-DPG wird an desoxygeniertes Hämoglobin gebunden, wobei als Bindungs-ort das Histidin 143 der β -Kette diskutiert wird (DE VREDER et al. 11). Erhöhte intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentrationen finden sich immer dann, wenn infolge einer Hypoxämie die Konzentration an desoxygeniertem Hämoglobin erhöht ist: bei zyanotischen Herzerkrankungen (OSKI et al. 12), chronischen Lungenerkrankungen (OSKI et al. 13), chronischen Anämien (TORRANCE et al. 14), sowie nach Adaption an große Höhen (LENFANT et al. 15).



The 2,3-diphosphoglycerate (2,3-DPG) cycle in the human red cell. When 2,3-DPG is formed it can combine reversibly with deoxyhemoglobin, thus relieving the product inhibition of 2,3-diphosphoglycerate mutase (2,3-DPG mutase) and facilitating further synthesis of 2,3-DPG from 1,3-DPG. Abbreviations: G-3-P = glyceraldehyde-3-phosphate; G-3-PD = glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; 3-PG = 3-phosphoglycerate; 2-PG = 2-phosphoglycerate; Pi = inorganic phosphate; PG kinase = phosphoglycerate kinase; PG mutase = phosphoglycerate mutase.

Schema 1: Der intraerythrocytäre 2,3-Diphosphoglycerat Zyklus (OSKI et al. 10)

Durch die infolge der erhöhten 2,3-DPG Konzentration bzw. verringerten Sauerstoffaffinität des Blutes bedingten Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve wird daher eine verstärkte Sauerstoffabgabe vom Hämoglobin bei höheren Sauerstoffpartialdrücken an die Gewebe ermöglicht.

Die Aufgabe unserer Arbeit besteht darin, die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration des Blutes unter dem Einfluß von kolloidalen Lösungen, also unter den Bedingungen der Hämodilution zu untersuchen und zu klären, inwieweit dem die Hämodynamik begünstigenden Effekt kolloidaler Lösungen durch die damit verbundene verschlechterte Sauerstoffversorgung der Gewebe eine Grenze gesetzt ist. Die Untersuchungen wurden gleichzeitig an adultem Blut und an Nabelschnurblut durchgeführt. Die Anwendung der Hämodilutionsbehandlung in der Neugeborenenperiode ist noch umstritten. Dennoch erschien es uns sinnvoll, das Verhalten von Nabelschnurerythrocyten zu untersuchen, insbesondere da die Bindung von 2,3-DPG an fetales Hämoglobin wesentlich geringer ist als an adultes Hämoglobin (11,12,16,17,18).

II. Methoden

A. Messung der Sauerstoffparameter des Blutes

Die Sauerstoffsättigung des Blutes wurde mit dem Radiometer Oxygen Saturation Meter Typ OSM 1 bestimmt. Die Meßgenauigkeit des Oxymeters bei Mehrfachbestimmungen ist in unseren Händen $\pm 1,2\%$. Ein Vergleich des spektralphotometrischen mit einem volumetrischen Verfahren (Gaschromatographie-GCM 4 Beckman Instruments München) ergibt im Meßbereich ausreichende Übereinstimmung ($r = 0,994$) (SEIFERT 19). Oxymeterwerte über 85% wurden nicht berücksichtigt.

Der Sauerstoffpartialdruck wurde polarimetrisch mit dem Instrumentation Laboratory pH/Gas Analyzer 113 S 1 gemessen. Die Elektrode wurde mit Gasen bekannter Zusammensetzung (Lösstoff-Gasmischpumpe) geeicht. Der mittlere Fehler beträgt im Normalbereich $\pm 0,7$ Torr.

B. Ermittlung der Sauerstoffaffinität

Die Sauerstoffaffinität läßt sich als Sauerstoffbindungskurve darstellen. Aus Vergleichsgründen sind die Standardbedingungen 37°C und $\text{pH} = 7,40$ allgemein akzeptiert. Die Paarlinge Sauerstoffsättigung und Sauerstoffpartialdruck (auf $\text{pH}=7,40$ mit dem Bohrfaktor $-0,48 \frac{\log p\text{O}_2}{\text{pH}}$ korrigiert) werden in ein Koordinatensystem eingetragen, in dem die Abszisse $\log p\text{O}_2$ und die Ordinate $\log \frac{S_{\text{O}_2}}{100-S_{\text{O}_2}}$ bilden. Der $p\text{O}_2$ -Wert bei 50% Sättigung (P_{50}) läßt sich ablesen. Zusätzliche Angaben zur Methodik bei BARTELS und HARMS 1959 (20), sowie BARTELS et al. 1960 (21).

Der pH-Wert wurde mit einer Glaselektrode, die vor jeder Messung mit Standardpuffern ($\text{pH}=6,84$ und $\text{pH}=7,384$) geeicht wurde, mit dem Instrumentation Laboratory pH/Gas Analyzer 113 S 1 bestimmt.

Wegen der geringen Schwankungen der 2,3-DPG Konzentration (s.u.) unter unseren standardisierten Versuchsbedingungen, ergaben sich nur kleine Unterschiede der P_{50} -Werte, die im Fehlerbereich der Meßmethode lagen. Es wurden daher die Regressionsgeraden für die Abhängigkeit von P_{50} und 2,3-DPG in adultem Blut und in Nabelschnurblut an je einem größeren Kollektiv ermittelt, wobei der HbF-Anteil des Nabelschnurblutes in der Kontrollgruppe dem der Versuchsgruppe entsprach. Über die Regressionsgeraden bestimmten wir unsere P_{50} -Werte. Die Gleichung der Regressionsgeraden war für HbA:

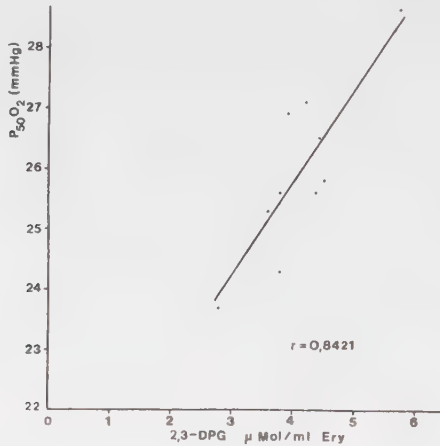
$$y = 1,5697 (\pm 0,8095)x + 20,7165 \quad \text{und für HbF:}$$

$$y = 0,9363 (\pm 0,9106)x + 18,3842 \quad (\text{Abb. 1a und 1b})$$

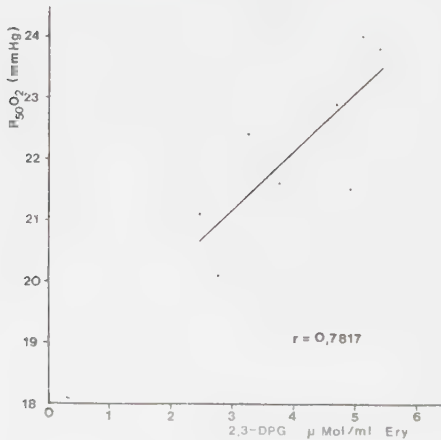
Abb.: 1 a und b

Abhängigkeit des Sauerstoffhalbsättigungsdruckes (P_{50} ; Ordinate) von der 2,3-DPG Konzentration im Erythrocyten (Abszisse) a) bei adultem Blut und b) bei Nabelschnurblut. Eingezeichnet ist jeweils die Regressionsgerade und der zugehörige Korrelationskoeffizient r . Der HbF-Anteil im Nabelschnurblut betrug 60,6 ($\pm 9,9$) %.

a)



b)



C. Messung der 2,3-Diphosphoglycerat Konzentration

Die 2,3-DPG Konzentration wurde enzymatisch bestimmt. 2,3-DPG ist ein Cofaktor der Phosphoglyceratmutase (PGM). Die PGM-Aktivität zeigt eine lineare Abhängigkeit vom 2,3-DPG bei niedriger Konzentration, sodaß die Messung der μ GK-Aktivierung bezogen auf eine Standarddeichkurve zur Bestimmung der 2,3-DPG Konzentration zu verwenden ist. PGM wird nach BÜCHER et al. 1964 (22) gemessen, wobei das Reaktionsprodukt 2-Phosphoglycerat in Pyruvat überführt wird, das in der Indikatorreaktion unter Verbrauch von NADH zu L-Lactat reduziert wird.

Meßreaktion:

D-3-Phosphoglycerat $\xrightarrow{\text{2,3-Diphosphoglycerat}}$ D-2-Phosphoglycerat

Hilfsreaktion a:

D-2-Phosphoglycerat $\xrightarrow[\text{Mg}^{++}]{\text{Enolase}}$ Phosphoenolpyruvat + H_2O

Hilfsreaktion b:

Phosphoenolpyruvat + ADP $\xrightarrow[\text{Mg}^{++}, \text{K}^+]{\text{Pyruvat-Kinase}}$ Pyruvat + ATP

Indikatorreaktion:

Pyruvat + $\text{NADH} + \text{H}^+$ $\xrightarrow{\text{Lactat-Dehydrogenase}}$ L-Lactat + NAD^+

Testzusammensetzung:

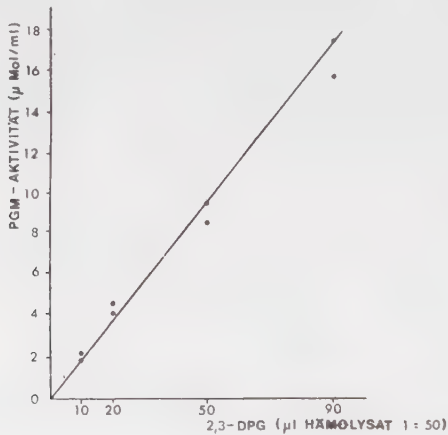
TRAP	50	mM	D-3-Phosphoglycerat	7	mM
EDTA	5	mM	Enolase	40	BE/ml Testvol.
KCl	75	mM	Pyruvat-Kinase	80	BE/ml Testvol.
MgSO_4	8	mM	Lactat-Dehydrogenase	120	BE/ml Testvol.
NADH	0,22	mM	Phosphoglyceratmutase	0,01	BE/ml Testvol.
ADP	1	mM			

pH=7,40;

T = 25°C;

Start mit 2,3-DPG 0,005 mM bzw. eines 1:50 Hämolyrates.
Das Hämolyrat wurde durch Einbringen von 20 µl Vollblut
in 980 µl aqua bidest hergestellt und bis zur Messung in
der Tiefkühltruhe gelagert.

Abb.: 2



Abhängigkeit der Phosphoglyceratmutase-Aktivität in
µMol/ml (PGM-Aktivität; Ordinate) von der Menge des zur
Bestimmung der 2,3-DPG Konzentration eingesetzten Hämolyrates 1:50 (Abszisse).

D. Bestimmung von HbF

Die Bestimmung von Hämoglobin F wurde nach der Methode
von Betke et al. 1959 (23) mittels Alkalidenaturierung
durchgeführt. HbF wird durch NaOH etwa 100mal langsamer
denaturiert als HbA₁ und HbA₂. Auf diesem Unterschied be-

ruht der Nachweis von HbF.

Ausführung:

Aus einem konzentrierten Hämolystat wird durch Verdünnung mit $K_3[Fe(CN)_6]$ -KCN-Lösung eine etwa 500 mg-%ige CN-Met-Hb-Lösung hergestellt. Nach 30 Minuten ist das Hb umgewandelt. 2,8 ml dieser CN-Met-Hb-Lösung werden bei 20° C im Wasserbad mit 0,2 ml einer 1,2 n NaOH versetzt. Nach genau 2 Minuten wird der Denaturierungsprozeß durch rasche Zugabe von 2,0 ml Ammonsulfat unterbrochen. Der ganze Ansatz weist nachher eine 40% Sättigung von Ammonsulfat auf. Dadurch wird das als alkalisches Hämatoglobulin bezeichnete Denaturierungsprodukt ausgefällt, während nicht-denaturiertes Hämoglobin in Lösung bleibt. Nach Entfernung des Präcipitats durch Filtrieren wird die Hämoglobin-Konzentration des Filtrats bei 540 nm im Spektrophotometer gemessen. Zur Bestimmung der Ausgangskonzentration wird eine Verdünnung von 0,4 ml Hämoglobininlösung und 6,75 ml aqua dest. gemessen, die ein zehnmal größeres Verdünnungsverhältnis aufweist als der Ansatz. Aus den erhaltenen Extinktionswerten kann HbF direkt in Prozent errechnet werden.

E. Festimmung des Hämatokrit

Zur Bestimmung des Hämatokrit wurde eine Christ Mikrohämatokritzentrifuge verwendet, die mit einer Beschleunigung von über 10 000 g arbeitet.

Alle Meßdaten sind Mittelwerte von Doppel- bzw. Mehrfachbestimmungen. Die statistischen Berechnungen erfolgten nach der Anweisung der Documenta Geigy, wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage, mit Hilfe eines Diehl Tisch Computers, Combitron S.

III. Versuchsbeschreibung; der in vitro Versuche

Zu jedem Versuch waren etwa 15 ml Blut nötig, das aus einer Cubitalvene bzw. aus der Nabelschnur und aus Plazentagefäßen entnommen wurde. Der Totraum der dabei verwendeten Einmalspritzen war mit Liquemin (im Verhältnis 1:10) gefüllt. Während das adulte Blut nach der Entnahme sofort verwertet wurde, lagerte das Nabelschnurblut höchstens 6 Stunden im Kühlschrank bei 4° C. Insgesamt wurden mit Erwachsenenblut und mit Nabelschnurblut je 5 Versuche gemacht, wobei wir in jedem Versuch Blut mit dem Hämatokrit von 45%, 15% und Erythrocyten in Rheomacrodex vom Hämatokrit 15% untersuchten.

Venöses Blut bzw. Nabelschnurblut wurde 10-15 Minuten bei Zimmertemperatur und 3500 U/Min zentrifugiert. Anschließend wurde das Plasma von den Erythrocyten getrennt, die auf den Erythrocyten liegende lockere Schicht aus Zelltrümmern und Leukocyten wurde mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die abgetrennten Erythrocyten wurden in einer 0,9%igen eiskalten NaCl-Lösung unter Zugabe von 0,8 M Glucose dreimal gewaschen. Danach wurden die gewaschenen Erythrocyten mit Plasma auf den Hämatokrit von 45%, 15% und mit Rheomacrodex auf einen Hämatokrit von 15% eingestellt und im Wasserbad von 37° C mit 5% CO₂, 25% O₂ und 70% N₂ 180 Minuten äquilibriert (die Gasgemische wurden mit Mischpumpen der Firma Wösthoff erzeugt). Pro ml Blut wurden 15 µl 0,8 M Glucose zugefügt. Zu folgenden Zeiten wurde die 2,3-DPG Konzentration, der Hämatokrit, der pH und das Hämoglobin bestimmt:

Für die Überlassung der Proben sind wir Herrn Prof. Dr. B. Fikentscher, Direktor der II. Univ. Frauenklinik, zu Dank verpflichtet.

- | | |
|--|-----------------|
| 1. nach der Blutentnahme | (Vollblut = VB) |
| 2. nach dem 1. Zentrifugieren | (1) |
| 3. nach dem 2. Waschen | (2) |
| 4. im Tonometer zur Zeit t= 0 Minuten | (0) |
| 5. im Tonometer zur Zeit t= 60 Minuten | (60) |
| 6. im Tonometer zur Zeit t=120 Minuten | (120) |
| 7. im Tonometer zur Zeit t=180 Minuten | (180) |

Messung des Hämatokrit

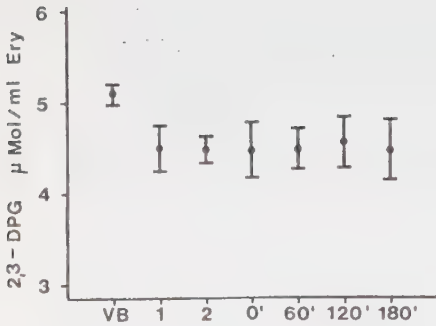
Während der Hämatokrit des Vollblutes direkt in Hämatokritkapillaren in der Mikrozentrifuge gemessen werden konnte, wurden bei den weiteren Proben solche Mengen an Erythrocyten und Plasma bzw. Erythrocyten und Rheomacrodex zusammengefügt, bis die Proben annähernd den Hämatokrit 45%, 15% und 15% hatten.

Überwachung des pH-Wertes

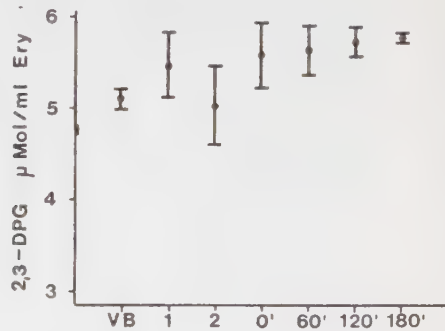
Zeigte der pH-Wert der Proben eine wesentliche Abweichung vom erwünschten Normwert 7,40 wurde eine Korrektur des pH mit 3 M Tris, 0,3 M Tris oder 8,4 %iger NaHCO_3 -Lösung durchgeführt. In einem Versuch wurde die CO_2 -Zufuhr von 5% auf 4% herabgesetzt.

Abb. 3a: Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten bei adultem Blut (2,3-DPG; Ordinate) bei A_1 : Hämatokrit=45% (Plasma), A_2 : Hämatokrit=15% (Plasma) und A_3 : Hämatokrit=15% (Rheomacrodex).

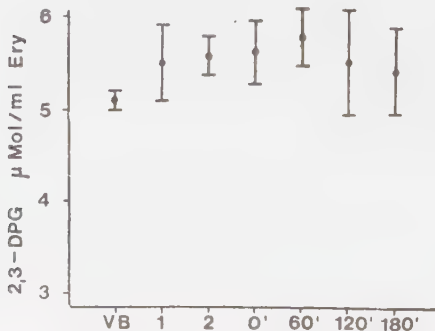
ittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte.
Abszisse: VB=Vollblut; 1=nach dem 1. Zentrifugieren; 2=nach dem 2. Waschen; 0'= im Tonometer zur Zeit $t=0$ Minuten und nach 60, 120 und 180 Minuten.



A_1 : Hk=45% (Plasma)



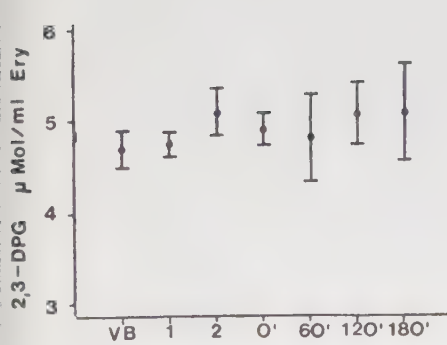
A_2 : Hk=15% (Plasma)



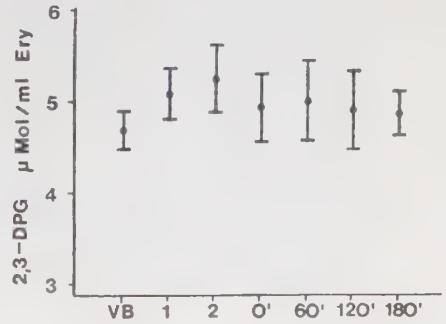
A_3 : Hk=15% (Rheomacrodex)

Abb. 3b: Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten bei Nabelschnurblut (2,3-DPG; Ordinate) bei B_1 : Hämatokrit=45% (Plasma), B_2 : Hämatokrit=15% (Plasma) und B_3 : Hämatokrit=15% (PheomacroDEX).

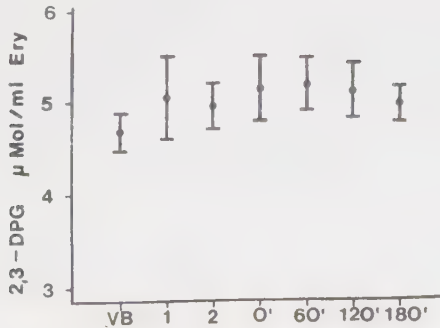
Mittelwerte $\pm$ mittlere Streuung der Einzelwerte.
Abszisse: VB=Vollblut; 1=nach dem 1. Zentrifugieren; 2=nach dem 2. Waschen; 0' = im Tonometer zur Zeit $t=0$ Minuten und nach 60, 120 und 180 Minuten.



B_1 : Hk=45% (Plasma)



B_2 : Hk=15% (Plasma)



Hk=15% (PheomacroDEX)

IV. Versuchsergebnisse und deren Diskussion

A) Adultes Blut

Die Resultate sind in Abb. 3a und in den Tabellen I und II zusammengefaßt. Im einzelnen ergab sich folgendes:

1. Bei adultem Blut mit einem Hämatokrit von 45% zeigt sich ein Abfall der intraerythrocytären 2,3-DPG Konzentration zwischen Vollblut und Blut, das zentrifugiert wurde von im Mittel 5,1 auf 4,5 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten. Diesen Abfall konnten wir nicht sicher erklären. Der Wert könnte darauf zurückzuführen sein, daß das 2,3-DPG dieses Kurvenpunktes aus nur einer Probe durch 5 Bestimmungen ermittelt worden ist. Zwischen allen weiteren Meßpunkten verbleibt die 2,3-DPG Konzentration auffallend konstant bei 4,5 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten. Die von uns gemessenen Ausgangswerte für die 2,3-DPG Konzentration stimmen sonst mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (OSKI et al. 10, SNYDER et al. 24).
2. Bei adultem Blut mit einem Hämatokrit von 15% können wir einen Anstieg der 2,3-DPG Konzentration gegenüber Blut vom Hämatokrit 45% auf Werte zwischen 5,45 und 5,75 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten verzeichnen. Als Ursache des relativ tiefen Wertes bei Meßpunkt 2 ist Verdünnung beim Waschen anzusehen.
3. Die Zugabe von Rheomacrodex zu Erythrocyten bis zu einem Hämatokrit von 15% führt bei adultem Blut zu keiner Beeinflussung der 2,3-DPG Konzentration. Die Werte liegen wie bei der Kurve A₂ zwischen 5,40 und 5,75 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten. Der gegen Versuchsende zu verzeichnende geringfügige Abfall der 2,3-DPG Konzentration der Kurve A₃ gegenüber A₂ kann nicht zur Interpretation herangezogen werden, da die Abweichungen beider Kurven im Bereich der Fehlergrenze der Meßgenauigkeit liegen.

B) Nabelschnurblut

Die Resultate sind in Abb. 3b und in der Tabelle III zusammengefaßt. Im einzelnen ergab sich folgendes:

1. Für die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration von Nabelschnurblut mit einem Hämatokrit von 45% konnten wir Werte zwischen 4,70 und 5,10 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten nachweisen. Es zeigt sich also eine generelle Erhöhung der 2,3-DPG Konzentration gegenüber adultem Blut gleichen Hämatokrits um 5-10%. Der zwischen den ersten beiden Meßpunkten beobachtete Abfall der Kurve A_1 wiederholte sich nicht beim Nabelschnurblut mit einem Hämatokrit von 45%. Da die 2,3-DPG Konzentration von Vollblut aus 5 verschiedenen Proben gemessen wurde, könnte als Bestätigung für die bei Punkt A 1 beschriebene Vermutung herangezogen werden. Auch bei Nabelschnurblut stimmen die von uns gemessenen Ausgangswerte für die 2,3-DPG Konzentration mit den Ergebnissen anderer Autoren überein (OSKI et al. 10, SNYDER et al. 24).
2. Bei Nabelschnurblut mit einem Hämatokrit von 15% zeigte sich kein Anstieg der 2,3-DPG Konzentration gegenüber Nabelschnurblut vom Hämatokrit 45%. Die Werte liegen zwischen 4,85 und 5,25 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten. Auch hier lassen die einzelnen Schwankungen der 2,3-DPG Konzentration keine Aussage über charakteristische Veränderungen zu.
3. Die Zugabe von Rheomacrodex zu Erythrocyten bis zu einem Hämatokrit von 15% führt auch bei Nabelschnurblut zu keiner Beeinflussung der intraerythrocytären 2,3-DPG Konzentration. Dies ist aus den Meßwerten abzulesen, die zwischen 4,95 und 5,20 $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten liegen.

Sowohl bei adultem Blut, als auch bei Nabelschnurblut zeigte sich bei den Proben mit dem Hämatokrit von 15% und Rheomacro-

dex ein auffallender Anstieg der 2,3-DPG Konzentration zwischen Vollblut und dem ersten Kurvenpunkt. Als Erklärung wäre theoretisch eine Störung des 2,3-DPG Testes insofern denkbar, als eine steigende Hämoglobin-Konzentration im Test zu einer zunehmenden Bindung des 2,3-DPG führt, das damit der Messung entzogen wird. Das hieße, daß bei den Proben mit dem Hämatokrit 45% falsch zu tiefe Werte bestimmt würden. Inwieweit also der Anstieg der 2,3-DPG Konzentration auf einen Effekt des Hämoglobin zurückzuführen ist, konnten wir durch folgende Versuche ausschließen:

1. Der Einsatz von 1x20 µl, 2x20 µl, 3x20 µl und 4x20 µl des gleichen Hämolysates in den Test zur enzymatischen Bestimmung des 2,3-DPG führte zu einer linearen Abhängigkeit zwischen der 2,3-DPG Konzentration und der Menge des eingesetzten Hämolysates. (Abb.4)
2. Diese lineare Korrelation ergab sich auch, wenn 10µl, 20 µl und 50 µl Vollblut mit aqua bidest auf 1000 µl aufgefüllt wurden und aus dem Hämolysat das 2,3-DPG bestimmt wurde. (Abb.5)

In Kontrollversuchen wurde im übrigen festgestellt, daß im Verlauf dieser in vitro Untersuchungsserien keine signifikanten Änderungen des mittleren Zellvolumens (MCV) und der mittleren zellulären Hämoglobin-Konzentration (MCHC) erfolgten. Dies bedeutet, daß der 2,3-DPG Gehalt der Erythrocyten, ausgedrückt in µMol/g Hämoglobin während des Versuches die gleichen Änderungen aufweist, wie sie für die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration (µMol/ml Erythrocyten) beschrieben wurde.

Wie schon zu Beginn erwähnt worden ist, ergaben sich für die P_{50} -Werte nur geringfügige Schwankungen. Deshalb können diesbezüglich keine für die Diskussion zweckdienlichen Aussagen gemacht werden. Die zu den einzelnen Meßdaten entsprechenden Werte sind in den Tabellen I, II und III angeführt.

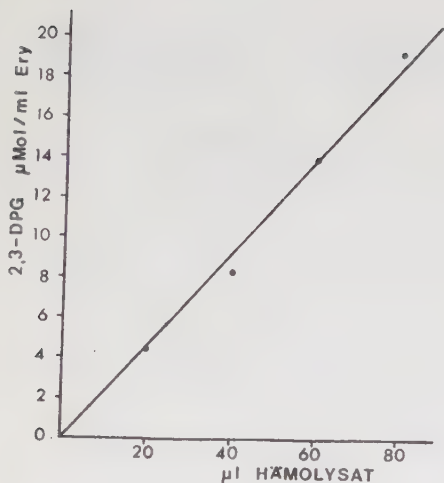


Abb. 4: Abhängigkeit der gemessenen 2,3-DPG Konzentration (2,3-DPG; Ordinate) in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten von der Menge des im Test eingesetzten 1:50 Hämolyrates. (Abszisse)

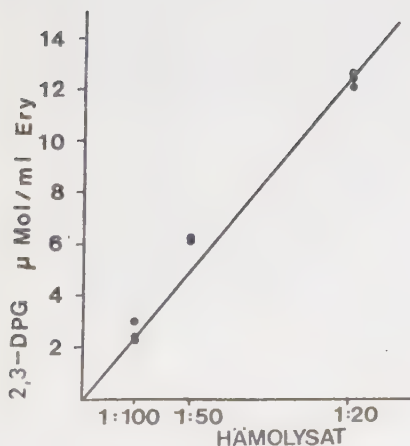


Abb. 5: Abhängigkeit der gemessenen 2,3-DPG Konzentration (2,3-DPG; Ordinate) in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten von der steigenden Konzentration des in den Test eingesetzten Hämolyrates. (Abszisse) Einsatz jeweils 20 μl Hämolyrat.

V. Versuchsbeschreibung der Hundeversuche

Neun normal hydrierte, unausgelesene Eastardhunde verschiedenen Geschlechts wurden ohne Praemedikation mit 25 mg Pentobarbital-Natrium/Kg Körpergewicht narkotisiert und endotracheal intubiert. Folgende Gefäße wurden freipräpariert und kanüliert: A. carotis communis, V. jugularis externa, A. und V. brachialis einer und A. brachialis der anderen Extremität. Die Tiere atmeten spontan ein Luft-Sauerstoffgemisch ($1-1,5 \text{ l/Min O}_2$) während der gesamten Versuchsdauer. Die Tiere wurden mit 3 mg Heparin-Novo/Kg Körpergewicht heparinisiert. Nach einer Kontrollperiode von 30 Minuten wurde über die A. brachialis in ein silikonisiertes Reservoir entblutet, wobei der arterielle Mitteldruck innerhalb von 10 Minuten auf 40 mmHg gesenkt wurde. Dieser Blutdruck wurde durch Niveaustellungen des Reservoirs exakt konstant gehalten. Der Zeitpunkt, zu dem die Tiere begannen, Blut aus dem Reservoir in ihren Kreislauf zurückzunehmen, wurde als Ende der Hypotoniezeit festgehalten. 5 Minuten danach erfolgte die Abnahme 2. Anschließend wurden 4 Tieren 50 000 KIE-Trasylol in 10 ml NaCl/Kg Körpergewicht innerhalb von 10 Minuten infundiert. Die Kontrollgruppe von 5 Tieren bekam nur 10 ml NaCl/Kg Körpergewicht. Unmittelbar danach wurden 80% des maximal entzogenen Blutvolumens als Dextran 60 (Macrodex) i.v. infundiert. 10 Minuten nach Ende der Infusion erfolgte Abnahme 3. Die weiteren Abnahmen wurden 30, 60, 120, 180 Minuten nach Infusionsende durchgeführt.

Die Versuche wurden am Institut für Experimentelle Chirurgie an der Chirurgischen Klinik der Universität München von Priv.-Doz. Dr. Bessmer, Dr. Sunder-Plassmann und Dr. Jesch durchgeführt.

VI. Versuchsergebnisse und deren Diskussion

Die Resultate sind in Abb. 6a und b, sowie in Tabelle IV festgehalten. Im einzelnen ergab sich folgendes:

1. Als Kontrollwert konnten wir für die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration von Hundeblut $6,79 \mu\text{Mol/ml}$ nachweisen. Nach dem Entbluten der Tiere fiel die 2,3-DPG Konzentration auf $6,51 \mu\text{Mol/ml}$ ab. Die Infusion von Macrodex führte während der Versuchsdauer von 180 Minuten zu einer Schwankung des 2,3-DPG Reservoirs der Hundeerythrocyten zwischen $6,33$ und $6,91 \mu\text{Mol/ml}$. Die während dieses Zeitraums von uns gemessenen 2,3-DPG Konzentrationen sind infolge der geringfügigen Schwankungen der Meßwerte sicher ohne funktionelle Bedeutung. Nach 180 Minuten konnten wir eine 2,3-DPG Konzentration von $6,66 \mu\text{Mol/ml}$ bestimmen. Eine signifikante Beeinflussung der intraerythrocytären 2,3-DPG Konzentration in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten durch die Infusion von Macrodex konnten wir also nicht nachweisen. (Abb. 6a)
2. Berechnet man das 2,3-DPG nicht in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten sondern in $\mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin, berücksichtigt man also die während des Versuches eintretende Änderung des mittleren Zellvolumens (MCV) und der mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration (MCHC), so ergibt sich ein anderer Kurvenverlauf (Abb. 6b). Der für das 2,3-DPG gemessene Kontrollwert von $17,55 \mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin steigt nach dem Entbluten der Hunde auf $18,82 \mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin an. Nach Beginn der Infusion von Macrodex konnten wir eine weitere Erhöhung des 2,3-DPG Reservoirs messen: 10 Minuten nach Infusionsende beträgt es $19,73 \mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin und weist 30 Minuten nach Infusionsende einen Wert von $19,79 \mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin auf.

Erst im weiteren Verlauf des Versuches fällt der 2,3-DPG Spiegel der Hundeerythrocyten ab und nähert sich nach 180 Minuten dem Ausgangswert mit $17,36 \mu\text{mol/g}$ Hämoglobin. Der initiale Anstieg des 2,3-DPG ließe sich als Reaktion auf die durch den Blutentzug verursachte Hypoxie erklären, wenn das zwischen den beiden Meßpunkten liegende Zeitintervall zur Synthese des 2,3-DPG ausreichen würde. Der Infusion von Macrodex folgt ein weiterer Anstieg des 2,3-DPG Gehaltes, der nach 30 Minuten 13% über dem des Kontrollwertes liegt. Im weiteren Versuchsverlauf erreicht das 2,3-DPG erst nach 180 Minuten den Kontrollwert wieder. Inwieweit es sich hierbei um einen spezifischen Effekt des Macrodex auf den Erythrocytenstoffwechsel handelt, oder ob der erhöhte 2,3-DPG Gehalt der Hundeerythrocyten auf einen anderen Parameter im Verlauf der Schockversuche zurückzuführen ist, können wir nicht mit Sicherheit beantworten. Da der 2,3-DPG Anstieg sogar während einer Phase der Acidose erfolgt, scheidet die übliche Erklärung über pH-Verschiebungen aus (MINAKAMI 25). Fest steht, daß es in dieser Periode nicht zu einem die Sauerstoffabgabe des Hämoglobin an die Gewebe gefährdenden Abfall des 2,3-DPG kommt.

Wir konnten keinen signifikanten Unterschied des 2,3-DPG Reservoirs der Hundeerythrocyten zwischen der Gruppe von Hunden feststellen, der 50 000 KIE-Trasylol in 10 ml NaCl/Kg Körpergewicht infundiert wurde und der Kontrollgruppe, der nur 10 ml NaCl/Kg Körpergewicht injiziert wurde. Dies geht aus der Tabelle IV hervor.

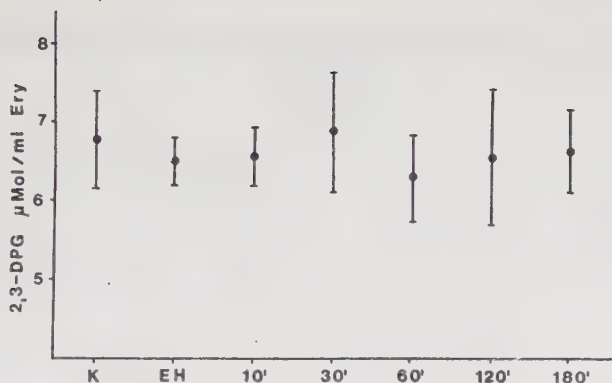


Abb. 6a: Abhängigkeit der 2,3-DPG Konzentration in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten von Hundeblut (2,3-DPG; Ordinate)

Abszisse: K = Kontrollwert

EH = Ende der Hypotoniezeit

10' = 10 Minuten nach Infusion von Macrodex

30' = 30 Minuten nach Infusion von Macrodex

60' = 60 Minuten nach Infusion von Macrodex

120' = 120 Minuten nach Infusion von Macrodex

180' = 180 Minuten nach Infusion von Macrodex

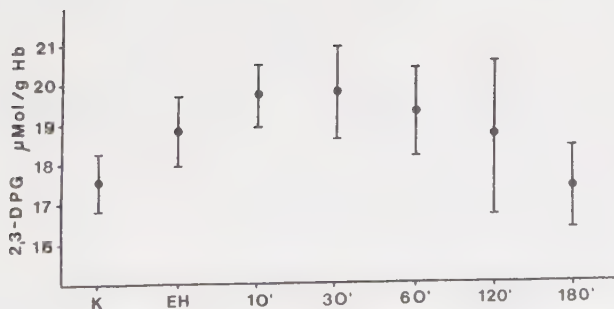


Abb. 6b: Abhängigkeit des 2,3-DPG Gehaltes in $\mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin von Hundeblut (2,3-DPG; Ordinate). Abszisse: Siehe oben.

VII. Zusammenfassung und Folgerungen für den klinischen Einsatz

Das Ziel dieser Arbeit war, den Einfluß der Hämodilution mit kolloidalen Lösungen oder Plasma auf die Regulation der Sauerstoffabgabe des Hämoglobin an die Gewebe zu untersuchen. Diese Frage erschien uns von beträchtlicher klinischer Relevanz, da man bisher nur die Bedeutung kolloidaler Lösungen in der Verbesserung der Hämodynamik sah. Durch die Messung der intraerythrocytären 2,3-DPG Konzentration war ein direktes Maß für die Sauerstoffaffinität des Hämoglobin gegeben. In 5 in vitro Versuchen mit adulten Blutproben und 5 in vitro Versuchen mit Nabelschnurblutproben, sowie in 9 in vivo Versuchen an Hunden kamen wir zu folgendem Ergebnis:

1. Bei adultem Blut ist die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration in Proben mit einem Hämatokrit von 15% um 20% größer als in Proben mit einem Hämatokrit von 45%. Die Zugabe von Rheomacrodex zu Erythrocyten bis zu einem Hämatokrit von 15% führt hingegen gegenüber Blut, das mit Plasma bis zum gleichen Hämatokrit verdünnt wurde zu keiner Beeinflussung der 2,3-DPG Konzentration.
2. Bei Nabelschnurblut ist die intraerythrocytäre 2,3-DPG Konzentration in Proben mit einem Hämatokrit von 45% um 5-10% größer als bei adultem Blut gleichen Hämatokrits. Nabelschnurblut mit einem Hämatokrit von 15% weist keinen Anstieg der 2,3-DPG Konzentration gegenüber Nabelschnurblut vom Hämatokrit 45% auf. Die Zugabe von Rheomacrodex zu Nabelschnurerythrocyten bis zu einem Hämatokrit von 15% führt gegenüber Nabelschnurblut, das mit Plasma bis zum gleichen Hämatokrit verdünnt wurde zu keiner Veränderung der 2,3-DPG Konzentration.
3. Bei den Schockversuchen an Hunden konnte nach Infusion von Macrodex innerhalb von 180 Minuten keine Beeinflussung der

2,3-DPG Konzentration in $\mu\text{mol/ml}$ Erythrocyten nachgewiesen werden. Wird jedoch die während des Versuches eintretende Änderung des mittleren Zellvolumens (MCV) und der mittleren zellulären Hämoglobin-Konzentration (CHC) berücksichtigt, indem man den 2,3-DPG Gehalt der Hundeerythrocyten auf die Einheit Hämoglobin bezieht, so zeigt sich, daß nach Infusion von Macrodex während der ganzen Versuchsdauer eine Erhöhung des 2,3-DPG bis zu 15% gegenüber dem Kontrollwert eintritt. Es konnte nicht geklärt werden, inwieweit dieser Effekt auf die Wirkung des Macrodex zurückzuführen ist, bzw. die Ursache in den Versuchsverhältnissen zu suchen ist.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von KNORPP et al. (7) gilt für den klinischen Einsatz, daß kolloidale Lösungen nicht die Sauerstoffabgabe des Hämoglobin an die Gewebe beeinflussen; ihr Wirkungsspektrum beruht weitgehend auf der Verbesserung der hämodynamischen Verhältnisse.

VIII. Tabelle I

Meßergebnisse der Versuche 1-5 mit adultem Blut

Die Versuche 1-5 (Tabelle I) und 6-10 (Tabelle II) wurden nacheinander ausgeführt. Nachträglich wurden von einem Versuch die Meßdaten 1 und 2, vom anderen Versuch die Meßdaten 120' und 180' und von beiden Versuchen die gemittelten Meßdaten 0' und 60' zu einem ganzen Versuch zusammengefügt. Der Meßwert für Vollblut wurde aus einer Probe durch 5 Einzelbestimmungen ermittelt.

Abkürzungen:

2,3-DPG	= 2,3-Diphosphoglycerat gemessen in $\mu\text{mol/ml}$ Erythrocyt
P ₅₀	= Sauerstoff-Halbsättigungsdruck in Torr
Hb	= Hämoglobin in g%
Hk	= Hämatokrit in %
VB	= Vollblut
1	= nach dem 1. Zentrifugieren
2	= nach dem 2. Waschen
0'	= im Tonometer zur Zeit t= 0 Minuten
60'	= im Tonometer zur Zeit t= 60 Minuten
120'	= im Tonometer zur Zeit t=120 Minuten
180'	= im Tonometer zur Zeit t=180 Minuten
RMD	= Rheomacrodex

Versuch 1

Adultes Blut

	2,3-DPG $\mu\text{mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
1	4,41	26,4	7,48	14,3	43,4
2	4,58	26,6	7,45	15,0	45,5
0'	4,55	26,6	7,43	15,0	45,5
60'	4,63	26,7	7,42	15,0	45,5
<u>Hk=15%</u>					
1	5,76	28,4	7,57	4,8	14,6
2	5,71	28,4	7,51	4,4	13,5
0'	6,06	28,9	7,56	4,4	13,5
60'	5,71	28,4	7,55	4,4	13,5
<u>RMD=15%</u>					
1	5,84	28,4	7,02	4,7	14,4
2	5,28	27,7	7,58	3,6	11,0
0'	5,58	28,2	7,26	3,6	11,0
60'	6,10	28,9	7,27	3,6	11,0

Versuch 2

Adultes Blut

<u>Hk=45%</u>					
1	4,27	26,2	7,45	15,3	46,5
2	4,61	26,7	7,43	15,1	46,0
0'	4,88	27,1	7,49	15,0	47,5
60'	4,52	26,6	7,38	15,0	45,5
<u>Hk=15%</u>					
1	5,48	28,0	7,53	5,2	17,2
2	4,70	26,8	7,52	4,6	14,0
0'	5,97	28,8	7,59	5,2	15,7
60'	5,12	27,5	7,51	5,2	15,7
<u>RMD=15%</u>					
1	4,85	27,0	7,36	4,5	13,7
2	5,86	28,6	7,22	4,4	13,2
0'	6,07	28,9	7,48	4,8	14,5
60'	6,18	29,0	7,39	4,8	14,5

Versuch 3

Adultes Blut

	2,3-DPG $\mu\text{mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
1	4,71	26,8	7,46	14,8	44,7
2	4,30	26,2	7,46	15,4	46,6
0'	4,63	26,7	7,38	14,9	45,2
60'	4,45	26,4	7,36	14,9	45,2
<u>Hk=15%</u>					
1	5,06	27,4	7,52	5,3	15,9
2	4,92	27,2	7,50	4,7	14,3
0'	5,45	28,0	7,47	5,1	15,3
60'	5,80	28,5	7,48	5,1	15,3
<u>RMD=15%</u>					
1	5,43	27,9	7,23	4,4	13,2
2	5,49	28,0	7,52	4,4	13,4
0'	5,40	27,9	7,33	4,0	12,2
60'	5,32	27,8	7,30	4,0	12,2

Versuch 4

Adultes Blut

<u>Hk=45%</u>					
1	4,28	26,1	7,51	15,4	46,6
2	4,34	26,3	7,48	15,6	47,5
0'	4,87	27,1	7,44	14,9	45,3
60'	4,62	26,7	7,40	14,9	45,3
<u>Hk=15%</u>					
1	5,16	27,5	7,56	5,0	15,3
2	5,15	27,5	7,58	5,3	15,9
0'	5,52	28,1	7,47	4,8	14,4
60'	5,83	28,5	7,47	4,8	14,4
<u>RMD=15%</u>					
1	5,86	28,6	7,20	4,7	14,2
2	5,62	28,2	7,39	4,5	13,5
0'	6,09	29,0	7,59	6,1	18,4
60'	6,08	28,9	7,57	6,1	18,4

Versuch 5

Adultes Blut

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
1	4,83	27,0	7,53	15,7	45,5
2	4,63	26,7	7,50	15,2	46,0
0'	4,68	26,8	7,47	14,8	44,8
60'	5,00	27,3	7,46	14,8	44,8
<u>Hk=15%</u>					
1	5,85	28,6	7,55	5,1	15,3
2	4,65	26,8	7,55	4,6	14,0
0'	5,64	28,3	7,52	4,7	14,2
60'	5,79	28,5	7,54	4,7	14,2
<u>RMD=15%</u>					
1	5,50	28,1	7,58	5,0	15,1
2	5,62	28,2	7,38	4,2	12,8
0'	5,56	28,2	7,51	3,3	9,9
60'	5,27	27,8	7,44	6,4	19,5
<u>Vollblut</u>					
VB	5,03	27,3	7,46	14,9	45,2
VB	5,13	27,5	7,46	14,9	45,2
VB	4,96	27,2	7,46	14,9	45,2
VB	5,26	27,7	7,46	14,9	45,2
VB	5,14	27,5	7,46	14,9	45,2

IV. Tabelle II

Meßergebnisse der Versuche 6-10 mit adultem Blut

Abkürzungen: Siehe Tabelle I (Seite 24)

<u>Versuch 6</u>					
Adultes Blut					
	2,3-DPG	P ₅₀	pH	Hb	Hk
	µMol/ml ery	Torr		g%	%
<u>Hk=45%</u>					
0'	4,35	26,3	7,40	15,2	46,0
60'	4,22	26,1	7,32	15,2	46,0
120'	4,54	26,6	7,31	15,2	46,0
180'	4,54	26,6	7,30	15,2	46,0
<u>Hk=15%</u>					
0'	4,86	27,1	7,48	5,4	16,5
60'	5,38	27,9	7,46	5,4	16,5
120'	5,67	28,3	7,47	5,4	16,5
180'	5,80	28,5	7,48	5,4	16,5
<u>P₅₀=15%</u>					
0'	5,16	27,5	7,48	5,0	15,1
60'	5,81	28,5	7,39	5,0	15,1
120'	6,02	28,9	7,35	5,0	15,1
180'	5,65	28,3	7,36	5,0	15,1

Versuch 7

Adultes Blut

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Fry}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
0'	3,91	25,6	7,51	15,1	45,7
60'	4,16	26,0	7,50	15,1	45,7
120'	4,14	26,0	7,45	15,1	45,7
180'	3,96	25,7	7,42	15,1	45,7
<u>Hk=15%</u>					
0'	5,17	27,6	7,45	4,9	14,9
60'	5,74	28,4	7,46	4,9	14,9
120'	5,57	28,2	7,45	4,9	14,9
180'	5,69	28,4	7,46	4,9	14,9
<u>RND=15%</u>					
0'	5,33	27,8	7,41	4,4	13,3
60'	5,59	28,2	7,40	4,4	13,3
120'	5,50	28,1	7,39	4,4	13,3
180'	5,04	27,4	7,41	4,4	13,3

Versuch 8

Adultes Blut

<u>Hk=45%</u>					
0'	4,14	26,0	7,39	14,9	45,2
60'	4,40	26,4	7,37	14,9	45,2
120'	4,52	26,6	7,35	14,9	45,2
180'	4,36	26,3	7,34	14,9	45,2
<u>Hk=15%</u>					
0'	5,73	28,4	7,46	5,7	17,3
60'	5,72	28,4	7,48	5,7	17,3
120'	5,61	28,2	7,46	5,7	17,3
180'	5,82	28,6	7,47	5,7	17,3
<u>RND=15%</u>					
0'	5,26	27,7	7,35	4,0	11,1
60'	5,64	28,3	7,38	4,0	11,1
120'	4,96	27,3	7,39	4,0	11,1
180'	5,32	27,8	7,38	4,0	11,1

Versuch 9

Adultes Blut

	2,2-DPG $\mu\text{mol/ml Ery}$	P_{50} Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
0'	4,40	26,4	7,36	15,3	46,3
60'	4,44	26,4	7,32	15,3	46,3
120'	4,85	27,1	7,27	15,3	46,3
180'	4,81	27,0	7,24	15,3	46,3
<u>Hk=15%</u>					
0'	5,80	28,5	7,42	5,4	16,4
60'	5,27	27,7	7,41	5,4	16,4
120'	5,98	28,8	7,40	5,4	16,4
180'	5,73	28,4	7,39	5,4	16,4
<u>F.D=15%</u>					
0'	6,00	28,8	7,49	4,7	14,3
60'	5,90	28,7	7,53	4,7	14,3
120'	4,89	27,1	7,56	4,7	14,3
180'	4,95	27,2	7,60	4,7	14,3

Versuch 10

Adultes Blut

<u>Hk=45%</u>					
0'	4,46	26,5	7,41	15,6	47,2
60'	4,57	26,6	7,39	15,6	47,2
120'	4,79	27,0	7,36	15,6	47,2
180'	4,71	26,9	7,33	15,6	47,2
<u>Hk=15%</u>					
0'	5,57	28,2	7,51	4,8	14,7
60'	5,87	28,6	7,52	4,8	14,7
120'	5,74	28,4	7,47	4,8	14,7
180'	5,71	28,4	7,45	4,8	14,7
<u>F.D=15%</u>					
0'	5,70	28,4	7,43	4,4	13,2
60'	5,88	28,6	7,50	4,4	13,2
120'	6,13	29,0	7,47	4,4	13,2
180'	6,07	28,9	7,44	4,4	13,2

V. Tabelle III

Meßergebnisse der Versuche 11-15
mit Nabelschnurblut

Abkürzungen: Siehe Tabelle I (Seite 24)

Versuch 11

Nabelschnurblut

HbF:68,2 %

	2,3-DPG μMol/ml Ery	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
VB	4,91	23,0	7,42	16,5	45,0
1	4,52	22,6	7,47	12,6	38,1
2	4,91	23,0	7,41	15,8	48,0
0'	4,63	22,7	7,40	16,8	45,8
60'	4,69	22,8	7,31	15,5	46,9
120'	5,47	23,5	7,31	15,5	46,9
180'	4,81	22,9	7,26	15,8	48,0
<u>Hk=15%</u>					
1	4,81	22,9	7,50	4,7	14,3
2	5,13	23,2	7,51	5,1	15,4
0'	5,10	23,1	7,54	4,8	14,6
60'	5,30	23,3	7,46	5,2	15,8
120'	4,52	22,9	7,52	5,2	15,8
180'	4,66	22,7	7,51	5,6	17,0
<u>Hk=15%</u>					
1	5,25	23,2	7,41	4,8	14,4
2	4,95	23,1	7,64	4,7	14,3
0'	4,80	22,9	7,62	5,2	15,6
60'	4,80	22,9	7,54	4,9	14,8
120'	5,26	23,2	7,64	4,9	14,8
180'	4,88	23,0	7,60	4,7	14,1

Versuch 12

Nabelschnurblut

HbF: 50,2 %

	2,3-DPG $\mu\text{mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
VB	4,63	22,8	7,46	15,0	45,3
1	4,85	22,9	7,51	14,4	43,5
2	4,95	23,1	7,42	16,0	48,6
0'	5,04	23,1	7,35	14,5	44,0
60'	5,58	23,6	7,25	15,0	45,3
120'	5,43	23,5	7,40	15,0	45,3
180'	5,96	23,9	7,36	15,4	46,7
<u>Hk=15%</u>					
1	5,22	23,3	7,58	4,3	13,1
2	5,85	23,9	7,57	5,1	15,5
0'	4,72	22,8	7,39	4,0	12,1
60'	5,03	23,1	7,30	4,1	12,5
120'	5,05	23,1	7,41	4,1	12,5
180'	4,89	23,0	7,44	4,3	12,9
<u>F T=15%</u>					
1	4,86	23,0	7,18	4,5	13,5
2	5,24	23,3	7,59	4,8	14,5
0'	5,46	23,5	7,42	8,0	24,1
60'	5,40	23,4	7,30	8,2	24,7
120'	5,45	23,5	7,48	8,2	24,7
180'	5,24	23,3	7,45	8,4	25,3

Versuch 13
Nabelschnurblut

HbF: 50,2 %

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
VB	4,48	22,5	7,45	13,7	41,1
1	4,82	22,9	7,45	14,1	42,6
2	5,53	23,5	7,40	14,2	43,0
0'	5,04	23,1	7,41	15,0	45,3
60'	4,95	23,0	7,48	14,4	43,6
120'	4,73	22,8	7,45	14,4	43,6
180'	4,56	22,6	7,44	13,8	41,9
<u>Hk=15%</u>					
1	4,93	23,0	7,49	5,0	15,0
2	5,30	23,3	7,46	5,1	15,3
0'	4,72	22,8	7,40	4,4	13,2
60'	4,72	22,8	7,42	4,9	14,7
120'	5,27	23,3	7,40	4,9	14,7
180'	5,28	23,3	7,44	5,3	16,2
<u>RMD=15%</u>					
1	4,94	23,0	7,57	5,0	15,1
2	4,66	22,7	7,48	4,7	14,1
0'	4,74	22,8	7,44	4,2	12,8
60'	5,25	23,3	7,51	4,1	12,3
120'	4,96	23,0	7,48	4,1	12,3
180'	5,14	23,1	7,48	3,9	11,8

Versuch 14

Nabelschnurblut

HbF wurde nicht gemessen

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
VB	4,54	22,6	7,45	16,7	50,7
1	4,80	22,9	7,39	12,8	39,2
2	4,92	23,0	7,46	13,4	40,6
0'	4,85	22,9	7,51	13,6	41,1
60'	4,40	22,5	7,40	15,0	45,6
120'	4,83	22,9	7,35	14,5	44,0
180'	4,95	23,0	7,42	14,0	42,4
<u>Hk=15%</u>					
1	5,05	23,1	7,41	4,6	13,9
2	4,82	22,9	7,49	5,3	16,0
0'	4,63	22,7	7,45	4,9	14,9
60'	4,49	22,6	7,44	4,9	14,9
120'	4,42	22,5	7,37	4,9	14,9
180'	4,71	22,8	7,41	4,9	14,9
<u>PMD=15%</u>					
1	4,52	22,6	7,44	4,5	13,7
2	5,19	23,2	7,50	5,3	16,1
0'	5,27	23,3	7,56	4,6	13,8
60'	5,05	23,1	7,47	6,1	18,4
120'	4,71	22,8	7,44	6,0	18,4
180'	4,79	22,9	7,39	5,9	17,9

Versuch 15
Nabelschnurblut

HbF: 70,1 %

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	P ₅₀ Torr	pH	Hb g%	Hk %
<u>Hk=45%</u>					
VB	4,91	23,0	7,46	13,7	41,1
1	4,75	22,8	7,48	16,5	50,0
2	5,18	23,2	7,50	13,7	41,4
0'	4,96	23,0	7,45	13,7	41,4
60'	4,45	22,5	7,38	15,3	46,3
120'	4,92	23,0	7,47	15,2	46,1
180'	5,14	23,3	7,44	15,2	45,9
<u>Hk=15%</u>					
1	5,51	23,5	7,50	6,3	18,9
2	5,24	23,3	7,51	5,4	16,3
0'	5,56	23,6	7,52	4,8	14,4
60'	5,59	23,6	7,39	4,8	14,4
120'	5,36	23,4	7,49	4,8	14,5
180'	4,87	23,0	7,48	4,8	14,6
<u>RIID=15%</u>					
1	5,76	23,8	7,52	5,3	15,9
2	4,83	22,9	7,53	5,0	14,9
0'	5,48	23,5	7,51	4,1	12,3
60'	5,50	23,5	7,48	5,1	15,3
120'	5,28	23,3	7,48	5,0	15,0
180'	4,89	23,0	7,43	4,9	14,8

XI. Tabelle IV

Meßdaten der Versuche 16-24 an Hunden

Abkürzungen:

2,3-DPG = 2,3-Diphosphoglycerat in $\mu\text{Mol/ml}$ Erythrocyten
und $\mu\text{Mol/g}$ Hämoglobin

Hb = Hämoglobin in g%

Hk = Hämatokrit in %

K = Kontrollwert

EH = Ende der Hypotoniezeit

10' = 10 Minuten nach Infusion von Macrodex

30' = 30 Minuten nach Infusion von Macrodex

60' = 60 Minuten nach Infusion von Macrodex

120' = 120 Minuten nach Infusion von Macrodex

180' = 180 Minuten nach Infusion von Macrodex

Die Versuche wurden am Institut für Experimentelle Chirurgie an der Chirurgischen Klinik der Universität München von Priv.-Doz. Dr. Messmer, Dr. Sunder-Plassmann und Dr. Jesch durchgeführt. Für ihre freundliche Überlassung der Meßdaten sind wir zu Dank verpflichtet.

Versuch 16

Mit Trasylol

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	2,3-DPG $\mu\text{Mol/g Hb}$	pH	Hb g%	Hk %
K	6,92	17,20	7,30	18,5	40,5
EH	6,35	17,99	7,05	18,4	53,0
10'	6,41	18,47	7,06	9,6	25,0
30'	6,12	19,55	7,10	9,1	27,0
60'	5,85	18,51	7,17	10,9	25,0
120'	6,51	17,40	7,27	12,2	33,0
180'	6,18	16,34	7,30	13,4	40,5

Versuch 17

K	6,88	18,37	7,26	17,0	45,0
EH	6,87	17,96	6,80	13,5	35,5
10'	6,99	19,55	6,97	9,5	26,0
30'	7,60	19,04	7,06	10,2	29,5
60'	6,64	18,55	7,10	11,1	30,0
120'	6,63	18,21	7,25	12,6	35,0

Versuch 18

K	6,00	16,85	7,21	15,0	43,5
EH	6,62	18,50	7,03	18,8	38,5
10'	6,77	19,18	7,01	8,6	23,0
30'	7,56	19,47	7,07	8,1	21,5
60'	6,30	18,97	7,13	8,3	24,0
120'	5,71	15,80	7,24	11,0	29,5
180'	7,05	17,01	7,32	14,1	30,5

Versuch 19

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	2,3-DPG $\mu\text{Mol/g Hb}$	pH	Hb g%	Hk %
K	6,75	17,57	7,33	11,9	33,5
EH	6,12	19,49	6,95	10,8	34,5
10'	6,44	19,79	7,07	5,3	19,0
30'	6,32	20,55	7,11	6,8	22,0
60'	7,39	20,93	7,29	7,3	24,0
120'	6,04	17,38	7,25	9,8	28,0
180'	6,87	16,36	7,30	11,8	35,0

Versuch 20

Mit Trasylol

K	6,50	16,89	7,37	15,2	43,5
EH	6,55	18,75	6,75	13,7	38,5
10'	6,38	20,03	6,83	5,4	17,0
30'	6,70	20,62	6,92	6,1	21,0
60'	6,49	20,34	7,08	6,7	21,0
120'	7,71	20,74	7,24	7,4	20,5
180'	7,42	18,39	7,28	11,5	33,0

Versuch 21

K	7,04	18,10	7,31	16,0	40,5
EH	6,23	19,36	6,92	11,5	31,5
10'	6,28	19,13	6,98	6,2	16,0
30'	8,12	18,16	7,06	6,8	15,0
60'	6,45	19,16	7,18	7,9	20,0
120'	8,02	21,44	7,33	7,4	19,0

Versuch 22

	2,3-DPG $\mu\text{Mol/ml Ery}$	2,3-DPG $\mu\text{Mol/g Hb}$	pH	Hb g%	Hk %
K	6,10	17,06	7,37	15,6	44,0
10'	5,99	20,54	6,92	7,7	23,0
30'	6,24	18,51	7,05	7,8	24,0
60'	6,41	20,67	7,15	6,8	24,5
120'	5,87	19,43	7,25	8,6	26,0
180'	6,28	17,43	7,27	10,3	28,5

Versuch 23

Mit Trasylol

K	7,00	18,57	7,33	17,7	47,5
EH	6,50	18,21	6,84	17,5	46,0
10'	6,96	20,90	6,81	6,7	22,0
30'	6,25	20,50	6,88	7,8	23,5
60'	5,93	17,97	6,95	8,2	24,0
120'	6,98	20,62	7,22	17,4	23,0

Versuch 24

Mit Trasylol

K	7,92	22,41	7,37	14,4	42,0
EH	6,86	20,30	7,14	13,4	49,5
10'	6,91	20,03	7,11	7,5	24,5
30'	7,30	21,79	7,16	7,9	26,0
60'	5,68	18,48	7,24	8,2	27,0
120'	5,79	17,29	7,31	10,3	31,0
180'	6,21	18,66	7,42	13,3	39,5

XIII. Literaturverzeichnis

1. Messmer, K., L. Sunder-Plassmann, K. Holper und W.P. Klövekorn:
Möglichkeiten und Grenzen therapeutischer Hämodilution.
Dextran Symposium Krems/Österreich (1969)
2. Ditzel, J.: Hemodilution in myocardial infarction.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p.264
3. Walker, C.H.M., and T.F. Mackintosh:
The treatment of hyperviscosity syndroms of the newborn with hemodilution.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p.271
4. Gottstein, U., K. Held and I. Sedlmeyer:
Cerebral and peripheral blood flow as affected by induced hemodilution.
Hemodilution. Theoretical Basis and Clinical Application. Karger, Basel (1972), p.247
5. Sunder-Plassmann, L., W.P. Klövekorn und K. Messmer:
Blutviskosität und Hämodynamik bei Anwendung kolloidaler Volumenersatzmittel.
Anaesthesist 20, 172 (1971)
6. Sunder-Plassmann, L., W.P. Klövekorn, K. Holper and K. Messmer:
The physiological significance of acutely induced hemodilution.
6th Europ. Conf. Microcirculation, Aalborg 1970, Karger, Basel (1971), p.23
7. Knorpp, K., Ch. Bauer, A.-M. Rathschlag-Schaefer und H. Bartels:
Einfluß von Plasmaersatzlösungen auf die Atmungsfunktion des Blutes beim hämorrhagischen Schock des wachen Kaninchens.
Arzneim.-Forsch. 20, 853 (1970)

8. Benesch, R. and R.E. Benesch:
The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin.
Biophys. Res. Commun. 26, 162 (1967)
9. Chanutin, A. and R.R. Curnish:
Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes.
Arch. Biochem. Biophys. 121, 96 (1967)
10. Oski, F.A. and M. Delivoria-Papadopoulos:
The red cell, 2,3-diphosphoglycerate and tissue oxygen release.
J. Pediat. 77, 941 (1970)
11. de Verdier, C.H. and L. Garby:
Low binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin F.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 23, 149 (1969)
12. Oski, F.A., W. Miller, M. Delivoria-Papadopoulos and A.J. Gottlieb: The effects of deoxygenation of adult and fetal hemoglobin on the synthesis of red cell 2,3-diphosphoglycerate and its vivo consequences.
J. Clin. Invest. 49, 400 (1970)
13. Oski, F.A., A.J. Gottlieb, M. Delivoria-Papadopoulos and W.W. Miller:
Red cell 2,3-diphosphoglycerate levels in subjects with chronic hypoxemia.
New Eng. J. Med. 200, 1165 (1969)
14. Torrance, J., P. Jacobs, A. Restrepo, J. Eschbach, C. Lenfant and C. Finch:
Intraerythrocytic adaption to anemia.
New Eng. J. Med. 283, 165 (1970)

15. Lenfant, C., P. Jacobs, E. English, C.A. Finch,
C. Peynfarje, J. Ramos, and J. Faura:
Effect of altitude on oxygen binding by
hemoglobin and on organic phosphate levels.
J. Clin. Invest. 47, 2652 (1968)
16. Bauer, C., I. Ludwig and M. Ludwig:
Different effects of 2,3-diphosphoglycerate
on oxygen affinity of adult and fetal human
hemoglobin.
Life Sci. 7, 1339 (1968)
17. Tyuma, I. and K. Shimizu:
Different responses to organic phosphates
of human fetal and adult hemoglobin.
Arch. Biochem. 129, 404 (1969)
18. Punu, H.F. and R.W. Briehl:
The interaction of 2,3-diphosphoglycerate
with various human hemoglobins.
J. Clin. Invest. 49, 1088 (1970)
19. Seifert, H.: Fetales Hämoglobin und 2,3-Diphosphoglycerat
als determinierende Faktoren der Sauerstoff-
Transportfunktion des Blutes im ersten Le-
bensjahr.
Inaugural-Dissertation, München (1972)
20. Bartels, H. und H. Harms:
Die Sauerstoff-Dissoziationskurven des Blu-
tes von Säugetieren (Mensch, Katze, Schwein,
Rind und Schaf).
Arch. Ges. Physiol. 268, 334 (1959)
21. Bartels, H., P. Milpert und K. Riegel:
Die Sauerstoff-Transportfunktion des Blutes
während der ersten Lebensmonate von Mensch,
Ziege und Schaf.
Pflüger Arch. 271, 169 (1960)

22. Bücher, T., V. Loh und D. Pette:
Einfache und zusammengesetzte optische
Tests an Pyridinnukleotiden.
Handb. Physiol. Path. Chem. Analyse 10. Auf-
lage, Vol. VI A Springer, Berlin (1964) p. 292
23. Betke, K., H.R. Parti and I. Schlicht:
Astimation of small percentages of fetal he-
moglobin.
Nature 184, 1877 (1959)
24. Snyder, L.M. and W.J. Reddy:
Mechanism of action of thyroid hormones on
erythrocyte 2,3-diphosphoglyceric acid syn-
thesis.
J. Clin. Invest. 49, 1993 (1970)
25. Minakami, S.:Effect of oxygen tension on glycolysis in
erythrocytes.
Försvarsmed. 5, 181 (1969)

Lebenslauf

GERT GÖTZ OLBRICH, geb. am 7.3.1949 in Flensburg

ELTERN: Reg. Oberamtmann Erhard Olbrich und Jutta Olbrich,
geb. Neuber

JAHRE

- 1955 : Volksschule Mannheim
- 1957 : Volksschule München
- 1959 : Übertritt in das Luitpold-Gymnasium München
- 1968 : Reifeprüfung
- 1968/69: Beginn des Studiums der Humanmedizin an der
Ludwig Maximilians Universität München
- 1969 : Vorphysikum
- 1971 : Physikum
Beginn mit den Arbeiten für die vorgelegte
Dissertation
- 1974 : Staatsexamen

